

**FORMULASI GEL TERMOSENSITIF DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* DARI MIKROPARTIKEL KLORAMFENIKOL
MENGUNAKAN WHEY PROTEIN UNTUK PENYEMBUHAN
LUKA SECARA TOPIKAL**

THERMOSENSITIVE GEL FORMULATION AND
ANTIBACTERIAL ACTIVITY EVALUATION AGAINST
STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM CLORAMPHENICOL
MICROPARTICLES USING WHEY PROTEIN FOR TOPICAL
WOUND HEALING

ARDIYAH NURUL FITRI MARZAMAN



SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023

**FORMULASI GEL TERMOSENSITIF DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* DARI MIKROPARTIKEL KLORAMFENIKOL
MENGUNAKAN WHEY PROTEIN UNTUK
PENYEMBUHAN LUKA SECARA TOPIKAL**

Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ARDIYAH NURUL FITRI MARZAMAN

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

TESIS

**FORMULASI GEL TERMOSENSITIF DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
DARI MIKROPARTIKEL KLORAMFENIKOL MENGGUNAKAN WHEY
PROTEIN UNTUK PENYEMBUHAN LUKA SECARA TOPIKAL**

ARDIYAH NURUL FITRI MARZAMAN

NIM: N012211044

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 15 Maret 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19890205 201212 1 003

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi



Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP.19800101 200312 1 004



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Ardiyah Nurul Fitri Marzaman

NIM : N012211044

Program studi : Farmasi

Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa kar ya tulisan saya ber judul

Formulasi Gel Termosensitif Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dari Mikropartikel Kloramfenikol Menggunakan Whey Protein Untuk Penyembuhan Luka Secara Topikal

adalah tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain bahwa tesis yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis hasil ini karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 15 Maret 2023

Yang menyatakan,



Ardiyah Nurul Fitri Marzaman
N012211044

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbil'alamiin, puji syukur kepada Allah swt. karena atas rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagai syarat memperoleh gelar magister di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Tak lupa pula shalawat dan taslim penulis sampaikan kepada Rasulullah Muhammad SAW. yang menjadi pemberi cahaya dan ilmu yang bermanfaat.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun tesis ini begitu banyak kendala yang penulis alami. Namun, karena adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, akhirnya penulis mampu merampungkan tesis ini. Banyak kendala yang dihadapi selama penelitian dan penyusunan tesis ini, namun dapat diselesaikan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak.

Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Andi Dian Permana S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Prof. Dr. apt. Sartini, M.Si., selaku Komisi Penasihat yang telah banyak memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
2. Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau., Prof. Dr. apt., Latifah Rahman, DESS., dan Yusnita Rifai, M.Pharm., Ph. D., Apt. selaku tim Komisi Penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang sangat membantu dalam penyusunan tesis ini.

3. Dekan, Wakil Dekan, Ketua Prodi Program Magister Farmasi, Bapak-Ibu dosen, serta seluruh civitas Akademika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah mendidik, memberikan sarana dan memotivasi penulis dari awal memasuki bangku kuliah hingga saat ini.
4. Kedua orang tua penulis, Ayahanda Marzaman, dan Ibunda Muslihati Umar untuk semua doa, dukungan materil dan nonmateril serta kasih sayang tulus yang telah diberikan yang tidak akan mampu penulis balas. Kakak penulis, Liza Utami Marzaman, Atika Puspita Marzaman, Tri Arini Putri Marzaman untuk motivasi serta kepada sanak keluarga yang turut mendoakan.
5. Kepada Lembaga DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) yang telah memberikan beasiswa pendidikan magister hingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik, serta kepada Kementerian Pendidikan, Riset dan Perguruan Tinggi melalui hibah penelitian Tesis Magister atas bantuan dana yang diberikan dalam penyelesaian penelitian tesis ini.
6. Seluruh laboran laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS, khususnya kepada ibu Sumiati, S.Si. dan ibu Haslia, S.Si. atas segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian tesis ini.
7. Rekan-rekan magister pascasarjana angkatan 2021 yang telah banyak membantu, semoga kesuksesan menyertai kita semua.
8. Semua pihak yang terlibat, yang tidak sempat penulis sebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun, di dunia tak ada satupun yang sempurna karena kesempurnaan hanya milik-Nya. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk menciptakan karya yang lebih bermutu. Akhir kata, semoga karya kecil ini dapat memberi manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang farmasi, *aamiin*.

Makassar, 15 Maret 2023

Ardiyah Nurul Fitri Marzaman

ABSTRAK

ARDIYAH NURUL FITRI MARZAMAN. “Formulasi Gel Termosensitif Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dari Mikropartikel Kloramfenikol Menggunakan Whey Protein Untuk Penyembuhan Luka Secara Topikal” (dibimbing oleh Andi Dian Permana dan Sartini).

Peningkatan kasus infeksi dan masalah dalam pengobatan seperti kelarutan obat yang kurang baik, mejadi penghalang dalam pemanfaatan obat melalui rute topikal. Penelitian ini bertujuan untuk mengenkapsulasi Kloramfeniko kedalam Whey protein dan selanjutnya diformulasikan menjadi gel *in situ* termosensitif untuk digunakan dalam penyembuhan luka secara topikal. Mikropartikel kloramfenikol (CAP-MP's) diformulasi dengan menggunakan proses emulsifikasi. Modifikasi lama dan kecepatan pencampuran, serta variasi konsentrasi WPI dan CAP menghasilkan ukuran partikel yang bervariasi ($0,946 \pm 0,075$ hingga $8,94 \pm 0,317\mu\text{m}$). Formulasi optimum dicapai dengan menggunakan 15% WPI dalam air, 100 mg kloramfenikol dalam 2 mL propilen glikol, fase minyak SPAN:VCO 5%, dengan waktu dan kecepatan homogenisasi masing-masing pada 15 menit dan 7500 rpm. Karakterisasi CAP-MP's menunjukkan nilai *polydispersity index* (PDI) sebesar $0,110 \pm 0,007$, efisiensi penyerapan obat sebesar $70,641 \pm 1,125$ dan *drug loading* sebesar $8,798 \pm 0,117$. Analisis *Scanning electron microscopy* (SEM) dari CAP-MP's menunjukkan partikel bulat, seragam dan tersebar di permukaan. Pluronic® F127, Pluronic® F68, dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) digunakan untuk formulasi gel termosensitif sesuai dengan karakterisasi yang diinginkan. Formulasi gel dapat menunjukkan bentuk cair pada suhu kamar (25°C) dan membentuk gel pada suhu 31°C . Formula optimum ini mampu meningkatkan bioadhesivitas ($28,161 \pm 3,903$) serta persentase oklusivitas kulit gel setelah 24 jam ($32,822 \pm 0,004$) dan dianggap tidak menunjukkan aktivitas hemolitik. Dalam pengujian aktivitas antibakteri *ex vivo*, evaluasi ini menunjukkan pengurangan 99,95% pada populasi bakteri *Staphylococcus aureus* (SA).

Kata kunci : antimikroba; infeksi kulit; kloramfenikol; mikropartikel; gel termosensitif; *whey protein*.

ABSTRACT

ARDIYAH NURUL FITRI MARZAMAN. “Thermosensitive Gel Formulation And Antibacterial Activity Evaluation Againsts *Staphylococcus Aureus* From Chloramphenicol Microparticles Using Whey Protein For Topical Wound Healing” (supervised by Andi Dian Permana and Sartini). The increasing of infection cases and problems in treatment such as poor drug solubility, is a barrier to the use of drugs through the topical route. This study focused on the incorporation of CAP into WPI (CAP-MP's) and was further formulated into thermosensitive *in situ* gel for wound healing treatment. Chloramphenicol (CAP) microparticles was produced by two steps emulsification process. Modifying the mixing time and speed, as well as the variation of WPI and CAP concentration, resulted in various particle size (0.946 ± 0.075 to $8.94 \pm 0.317 \mu\text{m}$). The optimum formulation was achieved using 15% WPI in water, 2 ml CAP in propylene glycol with total amount in the mixture was 100 mg, 5% oil phase, with homogenization time and speed at 15 minutes and 7500 rpm, respectively. The characterization of CAP-MP's showed a PDI values at 0.110 ± 0.007 , drug entrapment efficiency at 70.641 ± 1.125 and drug loading at 8.798 ± 0.117 . SEM analysis of CAP-MP's showed spherical, uniform particles and dispersed across the surface of the emulsion droplets. Pluronic® F127, Pluronic® F68, and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) were used for the thermosensitive hydrogel formulation with desired properties. The gels formulation can providing its liquid form at room temperature (25°C) and forming gel at 31°C. This optimum formula was able to increase the bioadhesivity (28.161 ± 3.903) as well as the percentage of gels skin occlusivity after 24 h (32.822 ± 0.004) and to be consider, it did not show hemolytic activities. In an *ex vivo* antibacterial activity, this combination approach showed a 99.95% reduction in the *Staphylococcus aureus* (SA) population.

Keywords: Antimicrobial; skin-infection; chloramphenicol; microparticle; thermosensitive-gel, whey-protein

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| LEMBAR PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS | iv |
| PRAKATA..... | v |
| ABSTRAK..... | viii |
| ABSTRACT | ix |
| DAFTAR ISI..... | x |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah..... | 5 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 5 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 6 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 7 |
| A. Fisiologi Kulit..... | 7 |
| B. Infeksi Kulit..... | 8 |
| C. Penetrasi Obat Melalui Kulit | 11 |
| D. Kloramfenikol | 12 |
| E. Mikropartikel | 13 |
| F. Hidrogel Termosensitif | 15 |
| G. Whey Protein | 17 |
| H. Model Infeksi Ex vivo, Studi Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Jaringan Bawah Kulit | 18 |
| I. Monografi Bahan | 18 |
| J. Kerangka Teori | 25 |
| K. Kerangka Konsep..... | 26 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | 27 |
| A. Rancangan dan Lokasi Penelitian | 27 |

| | |
|---|-----------|
| B. Alat dan Bahan | 27 |
| C. Metode Kerja..... | 27 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 46 |
| IV.1. Karakterisasi Kloramfenikol Terenkapsulasi Whey Protein (CAP-MP's)..... | 46 |
| IV.1.1 Penentuan Ukuran Partikel, Zeta Potensial dan PDI | 46 |
| IV.1.2 Persentase Efisiensi Penjerapan (EE) dan Drug Loading (DL) | 53 |
| IV.1.3 Analisis SEM | 57 |
| IV.1.4 Pelepasan obat CAP MPs secara <i>in vitro</i> | 58 |
| IV.1.5 Kinetika Pelepasan Obat Menggunakan Pemodelan Matematika..... | 60 |
| IV.2. Uji Aktivitas Antibakteri..... | 61 |
| IV.2.1. Uji Aktivitas Antibakteri secara <i>in vitro</i> dari CAP dan CAP-MP's | 61 |
| IV.2.2. Evaluasi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bakterisida Minimum (KBM)..... | 62 |
| IV.3 Formulasi dan Karakterisasi Sediaan Gel Termosensitif | 64 |
| IV.4 Studi Dermatokinetik <i>ex vivo</i> | 81 |
| IV.5 Uji aktivitas antibakteri <i>ex vivo</i> menggunakan model infeksi kulit tikus..... | 83 |
| BAB V PENUTUP..... | 85 |
| A. KESIMPULAN..... | 85 |
| B. SARAN..... | 86 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 87 |
| LAMPIRAN..... | 98 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|------------|
| <i>Tabel 1. Rancangan Formula Mikropartikel Kloramfenikol</i> | <i>30</i> |
| <i>Tabel 2. Komposisi Formula Awal untuk Sistem Gel in situ Termosensitif Mikropartikel Kloramfenikol</i> | <i>35</i> |
| <i>Tabel 3. Komposisi Formula Gel in situ Termosensitif Mikropartikel Kloramfenikol dengan Penambahan HPMC 0,5 (%b/b).....</i> | <i>36</i> |
| <i>Tabel 4. Komposisi Formula Gel in situ Termosensitif Mikropartikel Kloramfenikol yang dioptimalkan dengan variasi konsentrasi HPMC</i> | <i>37</i> |
| <i>Tabel 5. Rincian karakteristik formulasi berbeda yang digunakan untuk membuat CAP-MP's, termasuk ukuran partikel, PDI, potensi zeta, %EE dan % drug loading (rata-rata \pm SD, n = 3).....</i> | <i>48</i> |
| <i>Tabel 6. Model Kinetika Representatif dari Pelepasan obat antara CAP dan CAP-MPs (rata-rata \pm SD, n = 3).</i> | <i>60</i> |
| <i>Tabel 7. Nilai KHM dan KBM dari CAP dan CAP-MP's terhadap bakteri S.aureus.....</i> | <i>64</i> |
| <i>Tabel 8. Parameter Dermatokinetik CAP dan CAP-MP's dalam cairan simulasi luka pada kulit tikus yang terinfeksi</i> | <i>81</i> |
| <i><u>Tabel 9. Persamaan Kurva Baku Kloramfenikol dalam Metanol.....</u></i> | <i>99</i> |
| <i><u>Tabel 10. Persamaan Kurva Baku Kloramfenikol dalam Air.....</u></i> | <i>100</i> |
| <i><u>Tabel 11. Ukuran Partikel formulasi mikropartikel (F1-F14).....</u></i> | <i>101</i> |
| <i><u>Tabel 12. Indeks polidispersitas formulasi mikropartikel (F1-F14).....</u></i> | <i>102</i> |
| <i><u>Tabel 13. Potensial zeta formulasi mikropartikel (F1-F14)</u></i> | <i>103</i> |
| <i><u>Tabel 14. Perhitungan efisiensi penjerapan mikropartikel kloramfenikol (F1-F14).....</u></i> | <i>105</i> |
| <i><u>Tabel 15. Perhitungan persen drug loading mikropartikel kloramfenikol</u></i> | <i>108</i> |
| <i><u>Tabel 16. Persamaan Kurva Baku pada Media Wound Simulated Fluid</u></i> | <i>110</i> |
| <i><u>Tabel 17. Profil pelepasan obat dari mikropartikel kloramfenikol.....</u></i> | <i>112</i> |
| <i><u>Tabel 18. Profil pelepasan kloramfenikol tunggal</u></i> | <i>114</i> |
| <i><u>Tabel 19. Hasil uji KHM dan KBM dari Mikropartikel Kloramfenikol</u></i> | <i>117</i> |
| <i><u>Tabel 20. Data Uji suhu Gelasi pada Formula Awal (Preliminary).....</u></i> | <i>119</i> |
| <i><u>Tabel 21. Data Uji Suhu Gelasi setelah Penambahan HPMC 0,5 (%b/b)</u></i> | <i>119</i> |
| <i><u>Tabel 22. Data Uji Suhu Gelasi Formula Optimasi</u></i> | <i>120</i> |
| <i><u>Tabel 23. Data Uji Bioadesif Formula Awal</u></i> | <i>121</i> |
| <i><u>Tabel 24. Data Uji Bioadesif Formula Optimasi</u></i> | <i>121</i> |

| | |
|---|-----|
| <u>Tabel 24. Data Uji pH untuk Formula Optimasi</u> | 122 |
| <u>Tabel 25. Data Uji Daya Sebar untuk Formula Optimasi</u> | 122 |
| <u>Tabel 26. Data Uji Ekstrudabilitas untuk Formula Optimasi.....</u> | 123 |
| <u>Tabel 27. Data Uji Viskositas Pada Suhu Dingin</u> | 123 |
| <u>Tabel 28. Data Uji Viskositas Pada Suhu Ruang.....</u> | 123 |
| <u>Tabel 29. Data Uji Viskositas Pada Suhu Fisiologis Kulit</u> | 124 |
| <u>Tabel 30. Hasil uji reologi gel termosensitif mikropartikel kloramfenikol.</u> | 125 |
| <u>Tabel 31. Data Uji Oklusivitas Kulit.....</u> | 126 |
| <u>Tabel 32. Data Uji Hemolisis.....</u> | 128 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Anatomi Kulit..... | 8 |
| Gambar 2. Infeksi Kulit dan Jaringan Luka | 9 |
| Gambar 3. Penghantaran Mikropartikel ke Target Infeksi | 11 |
| Gambar 4. Struktur Kimia Kloramfenikol | 12 |
| Gambar 5. Gambaran Proses Enkapsulasi Partikel oleh Whey Protein... | 15 |
| Gambar 6. Ilustrasi Sistem Penghantaran Obat Berbasis Whey Protein . | 17 |
| Gambar 7. Struktur Kimia Pluronic | 19 |
| Gambar 8. Mekanisme Kerja Poloxamer..... | 20 |
| Gambar 9. Struktur Kimia Propilen Glikol | 21 |
| Gambar 10. Struktur Kimia Gliserin..... | 22 |
| Gambar 11. Struktur Kimia SPAN. | 23 |
| Gambar 12. Kerangka Konsep. | 26 |
| Gambar 13. Uji Kekuatan Bioadesif Gel Termosensitif CAP-MP's..... | 38 |
| Gambar 14. Uji Dermatokinetik <i>Ex vivo</i> Gel Termosensitif pada alat Sel Difusi Franz..... | 42 |
| Gambar 15. Histogram Hasil Pengamatan Ukuran Partikel | 47 |
| Gambar 16. Histogram Hasil Pengukuran Polidispersity Index (PDI)..... | 49 |
| Gambar 17. Histogram Hasil Pengukuran Zeta Potensial | 52 |
| Gambar 18. Histogram Hasil Pengukuran % Efisiensi Penjerapan..... | 54 |
| Gambar 19. Histogram Hasil Pengukuran % Drug Loading | 55 |
| Gambar 20. Analisis SEM dan <i>Light Microscope</i> | 57 |
| Gambar 21. Profil Pelepasan In Vitro dari Kloramfenikol Tunggal dibandingkan dengan CAP-MP's..... | 59 |
| Gambar 22. Uji antibakteri secara <i>In vitro</i> CAP dan CAP-MP's terhadap bakteri <i>S.aureus</i> | 61 |
| Gambar 24. Hasil uji KHM Sampel CAP dan CAP-MP's. | 63 |
| Gambar 25. Hasil Pembentukan Gel pada suhu kamar dan pada suhu fisiologis kulit..... | 65 |
| Gambar 26. Histogram Pengukuran Suhu Gelasi Pada Formulasi Awal. | 66 |

| | |
|---|----|
| Gambar 27. Histogram Pengukuran Suhu Gelasi setelah dilakukan penambahan HPMC 0,5 (%b/b)..... | 68 |
| Gambar 28. Histogram Pengukuran Suhu Gelasi Formula Optimasi | 69 |
| Gambar 29. Histogram Uji Kekuatan Bioadesif Pada Formulasi Awal. | 70 |
| Gambar 30. Histogram Uji Kekuatan Bioadesif Pada Formula Optimasi. | 71 |
| Gambar 31. Histogram Uji Viskositas yang Diukur pada Tiga Suhu yang Berbeda. | 74 |
| Gambar 32. Hasil Uji Reologi dengan Kurva Aliran Pseudoplastik. | 75 |
| Gambar 33. Histogram Pengukuran pH Pada Formula Optimasi..... | 76 |
| Gambar 34. Histogram Pengukuran Daya Sebar Pada Formula Optimasi. | 77 |
| Gambar 35. Histogram Pengukuran % Ekstrudabilitas Pada Formula Optimasi..... | 78 |
| Gambar 36. Histogram Pengukuran % Oklusifitas Pada Formula Optimasi. | 79 |
| Gambar 37. Hasil Pengujian Hemolisis pada Formula Gel F3c. | 80 |
| Gambar 38. Hasil Studi Dermatokinetik gel termosensitif CAP-MP's dalam CAP tunggal..... | 81 |
| Gambar 39. Hasil Stude Aktivitas Antibakteri dalam Model Infeksi <i>Ex vivo</i> antara Gel Termosensitif CAP-MP's dan CAP Tunggal. | 83 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----|
| <i>Lampiran 1. Prosedur Penelitian</i> | 98 |
| <i>Lampiran 2. Persamaan Kurva Baku Kloramfenikol dalam Metanol</i> | 99 |
| <i>Lampiran 3. Persamaan Kurva Baku Kloramfenikol dalam Air.....</i> | 100 |
| <i>Lampiran 4. Ukuran Partikel CAP-MP's.....</i> | 101 |
| <i>Lampiran 5. Indeks Polidispersitas</i> | 102 |
| <i>Lampiran 6. Potensial Zeta.....</i> | 103 |
| <i>Lampiran 7. Efisiensi Penjerapan</i> | 104 |
| <i>Lampiran 8. Persen Drug Loading.....</i> | 107 |
| <i>Lampiran 9. Profil Pelepasan Obat.....</i> | 110 |
| <i>Lampiran 10. KHM dan KBM Mikropartikel Kloramfenikol.....</i> | 117 |
| <i>Lampiran 11. Data Uji Suhu Gelasi Formula Awal</i> | 119 |
| <i>Lampiran 12. Data Uji Suhu Gelasi Formula Awal setelah Penambahan HPMC 0,5 %</i> | 119 |
| <i>Lampiran 13. Data Uji Suhu Gelasi Formula Optimasi</i> | 120 |
| <i>Lampiran 14. Uji kekuatan bioadhesive Formula Awal.....</i> | 121 |
| <i>Lampiran 15. Uji kekuatan bioadhesive Formula Optimasi</i> | 121 |
| <i>Lampiran 16. Uji pH Formula Optimasi.....</i> | 122 |
| <i>Lampiran 17. Uji Daya Sebar Formula Optimasi</i> | 122 |
| <i>Lampiran 18. Uji Ekstrudabilitas Formula Optimasi.....</i> | 123 |
| <i>Lampiran 19. Uji ViskositasFormula Optimasi Pada Suhu Dingin</i> | 123 |
| <i>Lampiran 20. Uji ViskositasFormula Optimasi Pada Suhu Ruang.....</i> | 123 |
| <i>Lampiran 21. Uji ViskositasFormula Optimasi Pada Suhu Fisiologis Kulit ..</i> | 124 |
| <i>Lampiran 22. Uji Reologi</i> | 125 |
| <i>Lampiran 23. Uji Oklusivitas kulit.....</i> | 126 |
| <i>Lampiran 24. Uji Hemolisis In Vitro.....</i> | 128 |
| <i>Lampiran 25. Hasil analisis Statistik dengan SPSS.....</i> | 129 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi mikroba pada epidermis, dermis, dan jaringan subkutan dikenal sebagai infeksi kulit dan jaringan lunak atau disebut *skin and soft tissue infection* (SSTI). Komplikasi tersebut biasanya terkait dengan nyeri lokal dan dapat menyebabkan masalah kesehatan yang signifikan termasuk sepsis, endokarditis, dan osteomyelitis (Dahlman et al., 2017). Adanya infeksi polimikrobia dan aktivitas pembentukan biofilm oleh bakteri juga menjadi salah satu faktor meningkatnya keparahan infeksi kulit sehingga berujung pada infeksi kronis dan kegagalan dalam pengobatan (Clinton & Carter, 2015).

Peningkatan jumlah penyakit infeksi kulit telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kematian, yang diketahui meningkat secara signifikan pada beberapa dekade terakhir. Rasio kematian terkait dengan penyakit ini adalah sebesar 20,3% dengan angka kematian adalah 3,4 per 100.000 individu per tahun (Hasan dkk., 2019). Berbagai penelitian juga telah menekankan Strategi pencegahan dan pengobatan harus terus ditingkatkan untuk melawan penyakit infeksi, khususnya yang disebabkan oleh polimikroba (Sartini et al., 2021)

Sebagai antibiotik spektrum luas yang sering digunakan dalam pemilihan terapi infeksi, kloramfenikol diketahui efektif dan bekerja dengan mengganggu pembentukan ikatan peptida bakteri dengan mengikat secara reversibel ke subunit 50S dari ribosom 70S, melalui penghambatan

pembentukan ribosom bakteri dari RNA terlarut (Bougas et al., 2017; A. Y. Shen et al., 2018). Dewasa ini, kloramfenikol tidak digunakan untuk pengobatan topikal pada infeksi kulit karena struktur kimia hidrofobiknya, yang menghambat penetrasi kulit yang memadai. Selain itu, kulit manusia yang lebih tebal, menjadi penghalang yang tidak dapat dilewati yang menghambat transportasi transdermal obat hidrofobik (Kalita et al., 2015).. Namun, tidak terbatas hanya pada sistem penghantarannya, pada nyatanya, ketersediaan konsentrasi obat yang tidak memadai pada jaringan infeksi tertentu juga menjadi masalah dalam durasi yang dibutuhkan untuk penghantaran obat ke target infeksi (Permana, Mir, et al., 2020a), sehingga pada penelitian ini juga akan membuat konsentrasi obat yang terlokalisasi pada target jaringan yang diinginkan. Aplikasi sediaan topikal dengan sistem penghantaran obat berupa krim, salep, dan gel pada kulit melalui beberapa jalur yang dapat dikategorikan menjadi dua rute, yaitu rute *appendageal* dan rute transepidermal untuk menembus *barrier* kulit agar obat dapat sampai pada target jaringan yang diinginkan (Cheung & Das, 2016).

Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian telah difokuskan pada peningkatan efektivitas antibiotik yang tersedia secara klinis melalui proses enkapsulasi kedalam sistem penghantaran mikropartikel/nanopartikel (Ferreira et al., 2015). Mikropartikel lebih dipilih pada target infeksi lokal dengan tingkat retensi obat yang lebih lama pada jaringan kulit dibandingkan nanopartikel. Sistem mikropartikel dapat disesuaikan untuk melepaskan obat secara perlahan pada target infeksi. Hal ini dapat dicapai

karena karakteristik jaringan yang terinfeksi mampu menghasilkan enzim bakteri spesifik yang lebih tinggi, pH yang lebih rendah, dan muatan permukaan yang berbeda (Mir et al., 2019).

Proses enkapsulasi obat kedalam polimer untuk menjadi mikropartikel dapat dilakukan dengan pemanfaatan polimer alami yaitu protein whey (WP). Protein whey memiliki kemampuan untuk membentuk *foaming*, emulsi dan gel serta mampu mengembangkan sistem pengiriman obat yang aman dalam bidang farmasi (Bourgeois et al., 2019; Lamas et al., 2001). Berdasarkan sifat ini, beberapa penelitian telah mengeksplorasi dan menetapkan WP sebagai bahan enkapsulasi untuk beberapa obat (Giroux & Britten, 2011). Combrinck dkk. telah berhasil menggunakan WP sebagai agen enkapsulasi yang terbukti paling efektif untuk pengiriman protein melalui rute transportasi kulit dan transdermal (Combrinck et al., 2014). Protein whey diketahui mengalami penataan ulang dimensi dan munculnya situs protein aktif sebagai akibat dari adanya pemanasan. Ikatan disulfida, ikatan hidrogen, dan interaksi van der Waals dapat berkembang sebagai akibat dari agregasi protein yang disebabkan oleh induksi panas (Picone et al., 2011). Untuk itu, penelitian ini juga berusaha untuk menggunakan prosedur thermal-crosslinking pada proses pembuatan mikropartikel menggunakan whey protein untuk menunjukkan bahwa tingkat denaturasi dan agregasi protein whey mungkin bergantung pada pemanasan.

Untuk memfasilitasi penghantaran mikropartikel dalam sistem dermal, sediaan dibuat dalam bentuk gel termosensitif yang akan mengalami gelasi

in situ karena perubahan suhu sehingga dapat membentuk gel dan melepaskan obat secara berkelanjutan atau terkontrol (Majeed & Khan, 2019). Polimer yang dapat digunakan adalah Pluronic® yang secara ekstensif telah diteliti untuk membuat bentuk sediaan yang berbeda, termasuk gel, mikroemulsi, nanopartikel, dan campuran polimer padat, yang dibuat dalam sediaan untuk pengobatan luka bakar, pemberian topikal agen antikanker, dan pengiriman obat berkelanjutan, serta aplikasi transdermal lainnya (W. Wang et al., 2017). Sifat amfifilik dan kapasitas *thermogelling* membuat Pluronic® menjadi pembawa yang menarik untuk memuat berbagai obat, mulai dari obat bermolekul kecil hingga obat bermolekul besar seperti protein (Chiappetta & Sosnik, 2007). Prinsip ini menjadi pengembangan sistem penghantaran yang selektif menghantarkan obat pada tempat infeksi yg spesifik.

Selanjutnya, untuk mengevaluasi keberhasilan pendekatan ini, digunakan studi dermatokinetik *ex vivo* pada model infeksi kulit tikus. Hasil dari studi ini dapat menunjukkan jumlah obat yang terlokalisasi dan mengetahui peningkatan aktivitas antibakterinya dibandingkan dengan penggunaan obat secara tunggal.

Berdasarkan pemaparan diatas, dilakukan inovasi riset dengan mendesain obat dalam bentuk mikropartikel yang dienkapsulasi dengan whey protein yang diharapkan memiliki efek lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada kulit. Mikropartikel selanjutnya diformulasikan dalam sistem penghantaran gel termosensitif untuk meningkatkan penetrasi

obat pada jaringan yang diinginkan. Selanjutnya dilakukan evaluasi, karakterisasi, dan uji efektivitas secara *in vitro* dan *ex vivo*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variabel konsentrasi dari bahan aktif, konsentrasi polimer Whey Protein, kecepatan pengadukan dan lama pengadukan terhadap karakteristik mikropartikel yang terbentuk?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri mikropartikel kloramfenikol pada pengujian secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi *gelling system* dalam formulasi sediaan gel *thermosensitive* dari mikropartikel kloramfenikol terhadap karakteristik gel yang terbentuk?
4. Bagaimana aktivitas antibakteri sistem gel *thermosensitive* dari mikropartikel kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri pada pengujian model infeksi kulit *ex vivo*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan formula terbaik untuk sediaan mikropartikel kloramfenikol setelah memvariasikan konsentrasi bahan aktif, konsentrasi polimer, kecepatan dan lama pengadukan yang sesuai dengan karakteristik fisik mikropartikel yang baik.
2. Mengevaluasi aktivitas antibakteri mikropartikel kloramfenikol pada pengujian secara *in vitro*.
3. Mendapatkan formula terbaik sistem *thermosensitive gel* dari mikropartikel kloramfenikol setelah memvariasikan konsentrasi *gelling system*.

4. Mengevaluasi aktivitas sediaan *thermosensitive gel* dari mikropartikel kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada pengujian model infeksi kulit *ex vivo*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan landasan yang kuat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan, khususnya dalam pengobatan infeksi bakteri pada kulit yang lebih efektif dan efisien.

BAB II

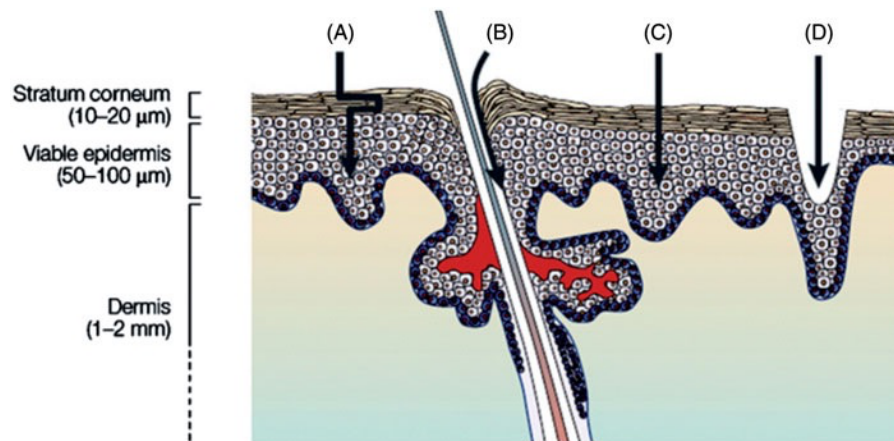
TINJAUAN PUSTAKA

A. FISILOGI KULIT

Kulit manusia adalah organ terbesar dalam anatomi manusia dengan luas permukaan kira-kira 20.000 cm² pada rata-rata manusia laki-laki, yang membentang di seluruh permukaan luar tubuh (Driscoll, 2006), di mana fungsi utamanya adalah menampung semua organ internal, melindunginya dari organisme dan bakteri asing dan bertindak sebagai penghalang pasif. Beberapa fungsi kulit lainnya antara lain pengaturan suhu tubuh bagian dalam, isolasi, ketahanan terhadap bakteri asing dan memberikan perlindungan pada organ bagian dalam (Cheung & Das, 2016; Driscoll, 2006). Luas permukaan kulit terus berubah tergantung pada usia, penurunan dan penambahan berat badan (Seidenari et al., 1994) (Petrofsky et al., 2008), tinggi dan jenis kelamin manusia (Lee & Hwang, n.d.). Kulit juga merupakan organ yang menerima panas dan rasa sakit. Kulit terdiri dari beberapa lapisan dimana lapisan utama terdiri dari epidermis, dermis dan jaringan subkutan (Driscoll, 2006).

Kulit terdiri dari 3 lapisan jaringan: (1) epidermis, lapisan terluar yang mengandung struktur pelindung utama yang disebut stratum korneum, yang memberikan penghalang fisik antara individu dan lingkungan eksternal, memberikan perlindungan dari infeksi (baik sebagai fisik penghalang dan melalui sel-sel kekebalan) (Fuchs, 2009); (2) Dermis yang tersusun atas lapisan fibrosa dan sebagian besar terdiri dari matriks ekstraseluler kompleks (ECM) yang mendukung dan menguatkan epidermis (Aman et

al., 2020; Lavker et al., 1987); dan (3) Jaringan subkutan merupakan lapisan lemak subkutan di bawah dermis yang berfungsi sebagai pengangkutan nutrisi dan migrasi sel pada jaringan kulit. Lapisan ini memiliki fungsi sebagai isolator, yang mengatur tubuh dalam hemoistasis suhu, dengan jaringan adiposa sebagai penyusun utama lapisan ini. Pada lapisan ini banyak pembuluh darah dan beberapa saraf perifer sebagai penghubung sensasi antar bagian tubuh yang lain (Serrano-Castañeda et al., 2018)

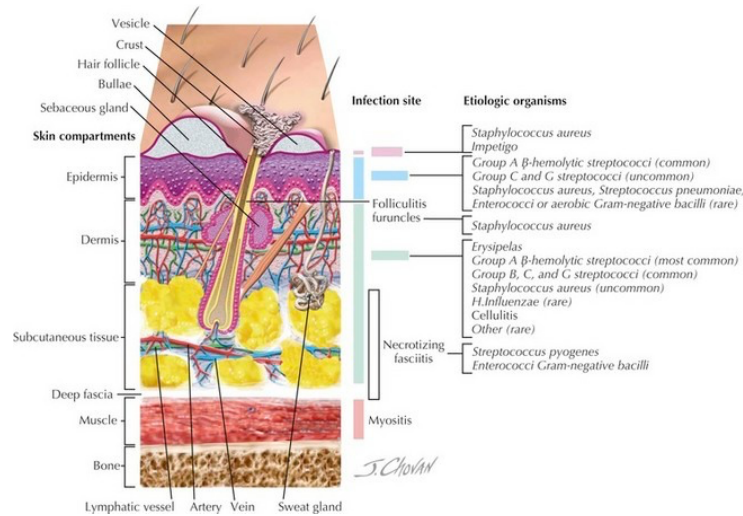


Gambar 1 : Anatomi Kulit (Sumber : (Shah et al., 2011)

B. INFEKSI KULIT

Infeksi mikroba pada epidermis, dermis, dan jaringan subkutan dikenal sebagai infeksi kulit dan jaringan lunak atau *Skin and soft-tissue infections* (SSTI). Komplikasi tersebut biasanya terkait dengan nyeri lokal dan dapat menyebabkan masalah kesehatan yang signifikan termasuk sepsis, endokarditis, dan osteomyelitis (Dahlman et al., 2017). Infeksi kulit dan jaringan lunak disebabkan oleh invasi mikroba pada lapisan kulit dan jaringan lunak di bawahnya. Infeksi kulit dan jaringan lunak memiliki manifestasi klinis, etiologi, dan tingkat keparahan yang bervariasi. Infeksi mungkin timbul di lokasi di mana barrier kulit telah rusak, misalnya luka atau

infeksi tempat operasi. Infeksi mungkin juga tampak tanpa kerusakan lapisan pelindung kulit, misalnya folikulitis yang timbul pada folikel rambut, atau furunkel dan bisul yang berkembang di pori-pori. Kontribusi lapisan yang lebih dalam seperti dermis dan/atau jaringan subkutan menyebabkan selulitis (Ki & Rotstein, 2008) , dengan keterlibatan jaringan yang lebih dalam, seperti otot yang dapat mendasari terjadinya fasciitis (Otto, 2010) dan bahkan myositis (Aman et al., 2020; Nauta, 1990).



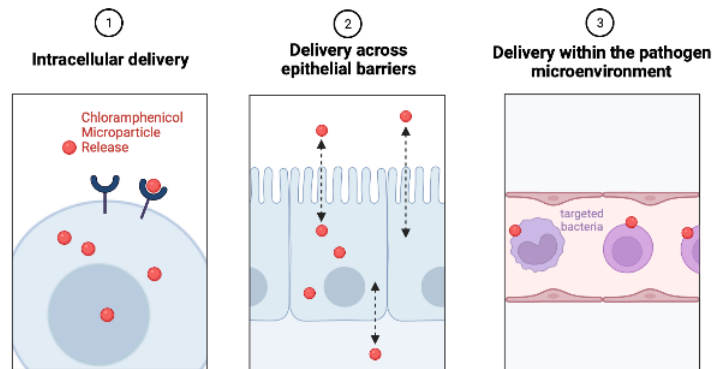
Gambar 2. Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak (Eric D Shelov, 2015).

Perkembangan infeksi kulit dan jaringan lunak dipengaruhi oleh tiga langkah yaitu perlekatan bakteri ke sel inang, invasi jaringan dengan penghindaran pertahanan inang dan perluasan toxin (Ki & Rotstein, 2008). Infeksi kulit dan jaringan lunak terdiri dari berbagai presentasi klinis, tergantung pada lokasi anatomi infeksi (Dryden, 2010). Tingkat keparahan infeksi bervariasi dari bentuk infeksi superfisial ringan hingga infeksi mematikan parah yang menembus jaringan subkutan dalam dan mengharuskan pasien untuk rawat inap (Stevens et al., 2014).

Infeksi bakteri pada kulit dan jaringan lunak dikategorikan sebagai infeksi kulit primer dan sekunder (del Giudice et al., 2006). Infeksi primer kulit dan jaringan lunak terjadi ketika mikroorganisme menyerang kulit yang sehat, terutama terdiri dari impetigo, ektim, erisipelas, eritrasma, folikulitis, furunkel, karbunkel, selulitis, *sycosis barbae*, abses, infeksi luka, dan paronikia akut. Jenis organisme yang menyebabkan infeksi primer pada kulit dan jaringan lunak sangat beragam, termasuk bakteri, virus dan jamur patogen serta parasit (Laube, 2004; Laube & Farrell, 2002). Sedangkan infeksi kulit dan jaringan lunak sekunder terjadi ketika, karena kerusakan kulit yang mendasari atau penyakit kulit kronis atau trauma (misalnya eksim atau dermatitis atopik, kulit trauma atau penyakit kulit yang sudah ada sebelumnya), mikroorganisme menginfeksi kulit yang sudah rusak, menghasilkan lebih banyak gejala hingga terjadi komplikasi (SIMOU et al., 2005). Mikroorganisme patogen menyebabkan kerusakan pada jaringan di sekitarnya yang mengarah pada respons inflamasi yang ditandai dengan rasa panas, eritema, dan nyeri. Kerusakan tersebut akan lebih parah pada pasien dengan diabetes karena hiperglikemia jangka panjang menyebabkan neuropati motorik dan otonom, imunopati seluler dan humoral, dan angiopati (Herman et al., 2008). Beberapa dari infeksi kulit ini melibatkan lapisan dalam kulit dan struktur pendukung, yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang substansial (Martínez et al., 2009). Jenis infeksi kulit yang paling invasif dan bahkan mengancam jiwa adalah necrotizing fasciitis (Fustes-Morales et al., 2002).

C. PENETRASI OBAT MELALUI KULIT

Biological Barriers that Microparticle Can Help Overcome



Gambar 3. Penghantaran Mikropartikel ke Target Infeksi. Create at : Biorender)

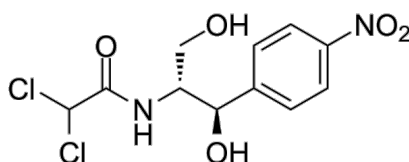
Sediaan dermal merupakan salah satu bentuk system penghantaran obat dengan cara ditempel atau dioleskan melalui kulit. Rute penghantaran obat secara dermal merupakan rute pilihan alternatif untuk pemberian obat tertentu (Lane, 2013). Beberapa obat didesain secara dermal dengan tujuan memberikan efek lokal pada kulit, meningkatkan penetrasi obat secara sistemik, meningkatkan efisiensi obat pada target jaringan bawah kulit, dan menghindari penyerapan yang tidak diinginkan. Namun, stratum korneum pada lapisan epidermis menjadi penghalang yang membatasi penetrasi zat melalui kulit (Bolzinger et al., 2012). Beberapa konsep penetrasi obat melalui kulit dijelaskan sebagai berikut.

- a. Rute *trans-appendageal* merupakan penghantaran obat melalui pori-pori pada kelenjar keringat dan folikel rambut. Meskipun demikian, beberapa penelitian menganggap bahwa jalur transappendageal bukanlah jalur transdermal yang signifikan karena folikel rambut dan kelenjar keringat menempati 0,1% permukaan kulit manusia. Namun, rute ini memberikan konsep penetrasi yang penting untuk obat molekul

besar dan senyawa polar yang hampir tidak dapat melewati *Stratum Corneum* (Serrano-Castañeda et al., 2018).

- b. Rute *Intercellular* adalah rute penetrasi obat melalui Jalur antarsel, yang merupakan jalur masuk utama untuk obat bersifat lipofilik. Karena kemasam matriks protein di dalam korneosit berupa gugus lipofilik, membuat lapisan *stratum corneum* bersifat impermabel. Rute ini menandakan secara langsung perjalanan obat melintasi keratinosit dan lapisan ganda lipid interselular lamelar ke lapisan kulit yang lebih dalam. Jalur ini berpengaruh terhadap penetrasi molekul yang relatif kecil (<500 Da) dan cukup lipofilik ($\log p = 1-3$) (Serrano-Castañeda et al., 2018).
- c. Rute *Intracelluler/Transcelluler*, pada jalur intraseluler, obat tersebut berpenetrasi bergantung oleh koefisien partisi ($\log P$). Obat hidrofilik dapat berdifusi melalui jalur intraseluler. Sebaliknya, obat lipofilik lebih dominan melewati *stratum corneum* melalui domain antar sel (Serrano-Castañeda et al., 2018).

D. KLORAMFENIKOL



Gambar 4 : Struktur kimia kloramfenikol (Sumber : Medchem, 2000)

Kloramfenikol adalah antibiotik yang digunakan secara luas pada infeksi bakteri. Kloramfenikol adalah antibiotika jenis bakterostatik yang mampu menghambat sintesis protein dengan cara menghambat aktivitas peptidil transferase dari ribosom bakteri, secara spesifik mengikat residu

A2451 dan A2452 dari 23s rRNA subunit ribosom 50s untuk mencegah terjadinya ikatan peptide (Oong & Tadi, 2022).

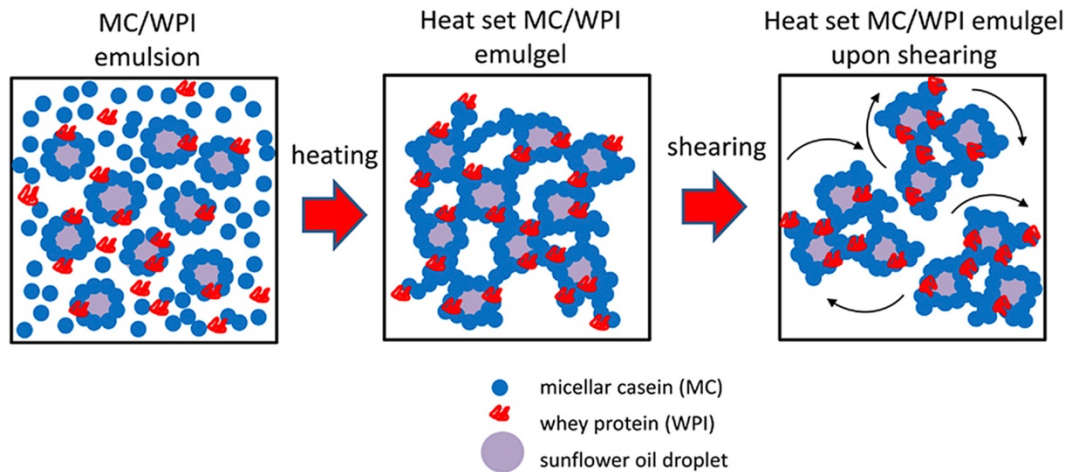
Berdasarkan sifat fisika-kimia, Kloramfenikol memiliki bentuk halus berwarna putih, putih keabu-abuan atau putih kekuningan, jarum, atau pelat memanjang, dengan titik leleh 150,5 sampai 151,5°C, dan sensitif terhadap cahaya. Sedikit larut dalam air (1 bagian dalam 400 bagian air), Mudah larut dalam alkohol dan propilen glikol, pH kloramfenikol dalam air berada diantara 4,5 dan 7,5 sehingga cukup stabil dalam larutan netral atau asam lemah. Penyimpanannya didalam wadah kedap udara (Berry, 2007). Struktur kimia kloramfenikol yang hidrofobik tidak memungkinkan penetrasi obat secara adekuat pada rute topikal (Kalita *et al.*, 2015).

E. MIKROPARTIKEL

Penghantaran mikropartikel dideskripsikan sebagai suatu partikel yang terdispersi pada ukuran mikrometer atau skala per seribu millimeter. Mikropartikel merupakan partikel dengan ukuran 1-1000 μm , dan telah diperkenalkan sebagai kandidat pembawa untuk obat lepas lambat. Mikropartikel obat secara umum harus mengandung obat dengan jumlah yang cukup di dalam matriks pada tiap butir partikel, sehingga memerlukan ukuran yang relatif lebih besar dibanding mikopartikel non-farmasetik (Bale *et al.*, 2016). Selama pembentukan mikropartikel, obat akan terdispersi/terlarut dalam droplet pelarut yang kemudian disalut oleh larutan polimer (fase eksternal). Penambahan surfaktan akan membentuk sistem dispersi yang stabil dan dengan adanya pengaruh mekanis akan membentuk partikel dengan ukuran yang lebih kecil (Singh *et al.*, 2011).

Beberapa kelebihan mikropartikel telah banyak dilaporkan seperti kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel tertentu, dapat didesain untuk pemberian secara lokal/sistemik dan dapat digunakan untuk mengatur efek yang diinginkan berupa lokal/sistemik (Kohane, 2007), serta fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai metode penghantaran lain, sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan dalam sistem penghantaran obat (Ferreira et al., 2015).

Mikropartikel (MP) telah banyak dimanfaatkan sebagai pendekatan antimikroba yang menjanjikan untuk manajemen terapeutik yang efisien pada penyakit infeksi (Ferreira et al., 2015). Sistem mikropartikel dapat disesuaikan untuk melepaskan secara responsif obat pada target infeksi, karakteristik jaringan yang terinfeksi menghasilkan produksi enzim bakteri spesifik yang lebih tinggi, pH yang lebih rendah, dan muatan permukaan yang berbeda (Mir et al., 2019). Untuk meningkatkan efektivitas agen terapeutik, formulasi mikropartikel dengan pemilihan polimer telah dimodifikasi dengan meningkatkan efisiensi pada target infeksi secara selektif melalui respon stimulus tertentu seperti enzim, pH atau suhu (Chen et al., 2018).



Gambar 5 : Gambaran Enkapsulasi Partikel oleh Whey Protein (Sumber : (Balakrishnan et al., 2017)

Partikel yang dibentuk dengan memanaskan suspensi homogen dari misel kasein (MC) yang dicampur dengan minyak bunga matahari pada pH < 6,5 dengan temuan bahwa tetesan minyak yang terbentuk dikelilingi atau dibungkus oleh lapisan MC dan selama proses pemanasan, tetesan minyak bergabung dalam jaringan misel. Fase minyak adalah pengisi aktif yang memungkinkan pembentukan gel pada konsentrasi misel yang lebih rendah dalam fase air dibandingkan dengan gel yang dibentuk oleh suspensi MC tanpa menggunakan fase minyak. Pada konsentrasi misel tertentu dalam fase air, emulgel menunjukkan penurunan sineresis dan menjadi lebih rigid. Penggunaan isolat protein whey (WPI) sebesar 20% atau 40% lebih besar dari konsentrasi misel menyebabkan pembentukan jaringan yang lebih homogen (Balakrishnan et al., 2017)

F. THERMOSENSITIVE GEL

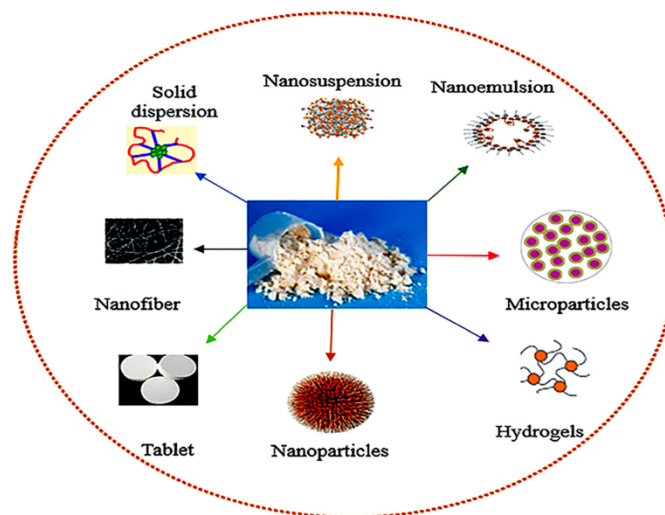
Sistem pembentukan gel *in situ* adalah sistem penghantaran obat yang berada dalam bentuk larutan sebelum pemberian dalam tubuh tetapi setelah diberikan, mengalami gelasi *in situ*, untuk membentuk gel yang

dipicu oleh stimulus eksternal dan melepaskan obat dalam kondisi berkelanjutan dan terkontrol (Majeed & Khan, 2019).

Sistem pembentuk gel *in situ* telah menjadi salah satu yang paling menonjol di antara sistem pemberian obat baru karena banyak keuntungan seperti peningkatan kepatuhan pasien dan berkurangnya frekuensi pemberian obat. '*In situ*' adalah kata Latin yang berarti 'pada posisi'. Ada banyak mekanisme pemicu dalam pembentukan gel *in situ* beberapa di antaranya adalah perubahan pH, modifikasi suhu dan pertukaran pelarut. Berbagai rute administrasi sistem gel *in situ* adalah oral, hidung, oftalmik, vagina, injeksi, intraperitoneal, dan rektal (Sarada K et al., 2014).

Studi tentang gel termosensitif merupakan yang paling banyak dipelajari dari sistem polimer yang sensitif terhadap lingkungan dalam riset penghantaran obat. Penggunaan biomaterial yang memiliki transisi dari sol-gel dipicu oleh peningkatan suhu adalah cara yang menarik untuk meneliti sistem pembentukan *in situ*. Kisaran suhu kritis ideal untuk sistem tersebut adalah suhu sekitar dan fisiologis, sehingga manipulasi klinis dipermudah dan tidak ada sumber panas eksternal selain dari tubuh yang diperlukan untuk memicu gelasi. Ada tiga jenis sistem yang diinduksi suhu antara lain tipe sensitif *thermo* negatif, misalnya: Poli (Nisopropylacrylamide), tipe sensitif *thermo* positif, misalnya: asam poliakrilat, dan tipe yang *thermo* reversibel, misalnya: poloxamer (Chavan & Vyas, 2017; Mohanty et al., 2018).

G. WHEY PROTEIN



Gambar 6. Ilustrasi Sistem penghantaran obat berbasis protein whey (Farooq et al., 2019).

Bahan tambahan (eksipien) yang alami telah menjadi salah satu komponen penting dalam sistem penghantaran obat. Di antara eksipien alami ini, polimer berbasis protein memiliki fitur luar biasa karena kapasitas pengikatan obat yang tinggi dan biodegradabilitas. Polimer berbasis protein ini memiliki keunggulan besar dibandingkan lipid, karbohidrat, organik, dan polimer sintetik. Biopolimer yang berasal dari sumber alami telah digunakan secara ekstensif untuk mempersiapkan sistem penghantaran obat dan rekayasa jaringan yang ditargetkan dan terkontrol. Toksisitas masih menjadi perhatian utama untuk polimer sintetik dibandingkan dengan biopolimer alami, dengan demikian, polimer alami ini dianggap sebagai pembawa yang lebih aman untuk sediaan farmasi dengan sistem pengiriman obat berbasis protein (DDs) dianggap oleh banyak orang sebagai pembawa yang menjanjikan karena sifat fungsionalnya yang sangat baik (Farooq et al., 2019).

Sistem penghantaran obat berbasis protein makanan (DDs) dianggap oleh banyak orang sebagai pembawa yang menjanjikan karena sifat fungsionalnya yang sangat baik seperti gelasi, emulsifikasi, pembusaan, dan kapasitas menahan air (Walstra, 2007). Protein Whey juga memiliki potensi besar untuk berikatan dengan berbagai senyawa bioaktif melalui kelompok fungsional pada struktur utama polipeptida mereka, menahan mereka sampai dilepaskan di situs target yang diinginkan dalam tubuh (Subirade & Chen, 2008). Berbagai system penghantaran obat berbasis protein telah dilaporkan, termasuk mikropartikel, hidrogel, dan nanopartikel (NP) (Farooq et al., 2019).

Protein whey memiliki kemampuan untuk membentuk *foaming*, emulsi dan gel (Bourgeois et al., 2019). Penelitian yang dilakukan oleh (Giroux & Britten, 2011), berhasil membuat nanopartikel yang stabil dari protein whey dengan diameter mulai dari 100 hingga 300 nm yang didenaturasi dengan perlakuan siklus pH. Nanopartikel ini dapat digunakan untuk enkapsulasi, perlindungan dan pengiriman terkontrol senyawa hidrofobik untuk meningkatkan lipofilisitasnya

H. MODEL INFEKSI EX-VIVO, STUDI EVALUASI PENGGUNAAN ANTIBIOTIK PADA JARINGAN BAWAH KULIT

Beberapa model infeksi kulit in vivo yang telah dijelaskan dalam literatur, namun, tidak ada yang mulai digunakan secara luas. Aplikasi pengobatan secara in vivo perlu dipertimbangkan untuk mencegah hewan coba menjilati dan merawat tempat yang terinfeksi, sehingga menghasilkan data yang bias terkait penyembuhan luka (Rubinchik & Pasetka, 2010).

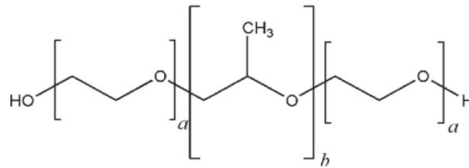
Model infeksi kulit *ex vivo* memungkinkan evaluasi aktivitas antimikroba dengan hasil data yang *Reproducible*. Model ini didasarkan pada penggunaan turunan kulit yang dipotong dari hewan coba. Potongan kulit didesinfeksi dan diinokulasi dengan patogen manusia. Jumlah koloni mikroorganisme per potongan kulit ditentukan setelah inkubasi. Model ini memberikan beberapa keunggulan. Pertama, karakteristik morfologis dan fungsional kulit sebanding dengan kulit manusia. Kedua, kulit hewan dalam jumlah besar dapat dengan mudah diperoleh dan dibekukan untuk jangka waktu yang lama, sehingga memungkinkan fleksibilitas dalam inisiasi eksperimen. Ketiga, kulit dapat diinokulasi dengan berbagai patogen manusia di bawah kondisi (suhu, kelembaban) yang menyerupai kolonisasi kulit manusia dan meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan organisme. Model ini memungkinkan untuk penentuan kuantitatif yang akurat dari aktivitas antimikroba atau antijamur dan pengujian formulasi obat secara topikal (Rubinchik & Pasetka, 2010).

I. MONOGRAFI BAHAN

1. Poloxamer

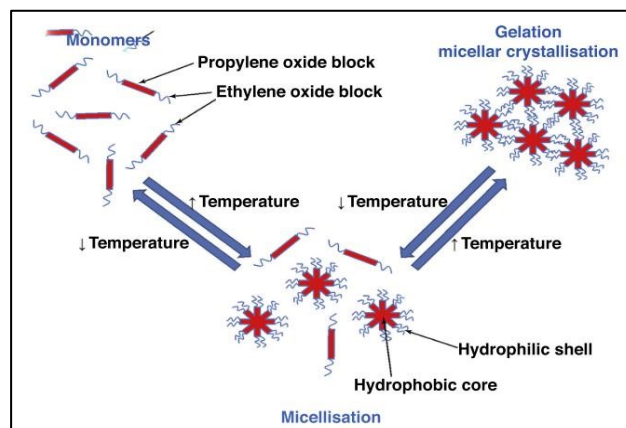
Pluronic[®] atau poloxamer merupakan kopolimer tri-blok sintesis yang terdiri dari 2 bagian monomer yaitu polietilena oksida (PEO) dan propilena oksida (PPO). Umumnya, Pluronic[®] berwujud butiran putih, granul, atau lilin (*wax*) yang tidak berbau dan tidak berasa. Polipropilena oksida adalah bagian tengah hidrofobik yang dikelilingi di kedua sisi oleh polietilena oksida hidrofilik. Poloxamer memiliki properti pengaturan termal yang baik dan peningkatan waktu tinggal obat, dapat memberikan karakteristik fisik gel

yang transparan dan tidak berwarna. Larutan berair pekat dari Pluronic dapat membentuk gel termoreversibel (Majeed & Khan, 2019)



Gambar 7. Struktur Kimia Pluronic

Pluronic® yang umum digunakan ialah Pluronic® F68, F87, F108, dan F127 karena sifatnya yang mudah larut dalam air. Pluronic terbagi menjadi beberapa jenis berdasarkan pada rasio PEO dan PPO. Pluronic® F127 memiliki rasio PEO sebesar 70% dan PPO sebesar 30%. Sedangkan, Pluronic® F68 memiliki rasio PEO sebesar 80% dan PPO sebesar 20% (Rowe *et al.*, 2009; Russo and Villa, 2019). Selain itu, Pluronic® juga bersifat tidak toksik, non-iritan, dan biokompatibel dengan berbagai jenis sel (Akash *et al.*, 2014).

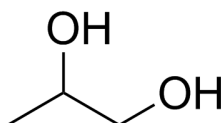


Gambar 8. Mekanisme kerja Poloxamer (Soliman *et al.*, 2019)

Pluronic® termasuk ke dalam surfaktan yang bersifat amfifilik sehingga Pluronic® mampu berasosiasi dengan diri sendiri dan membentuk misel pada konsentrasi tertentu yang dikenal sebagai konsentrasi misel kritis (CMC). Selama pembentukan misel, PPO berinteraksi bersama melalui

ikatan van der Waals untuk membentuk inti misel hidrofobik, sedangkan PEO menempati kulit misel, berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen. Ketika suhu meningkat, terjadi interaksi yang menguntungkan antara PPO seperti desolvasi polimer, sehingga meningkatkan pembentukan misel pada konsentrasi polimer yang lebih rendah. Setelah pemanasan lebih lanjut dari larutan misel, agregat misel Pluronic pada suhu tertentu dan fluiditas sistem menurun secara tiba-tiba, yang mengarah pada pembentukan gel. Proses tersebut berlangsung secara reversibel karena penurunan suhu akan mengakibatkan Pluronic® kembali ke dalam keadaan awalnya (Gambar 8) (Russo and Villa, 2019 (Soliman et al., 2019).

2. Propylene Glikol



Gambar 9. Struktur Kimia Propylen Glikol

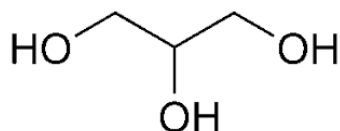
Propilen glikol telah banyak digunakan sebagai pelarut, ekstraktan, dan pengawet dalam berbagai formulasi farmasi parenteral dan nonparenteral. Propilen glikol adalah pelarut umum yang lebih baik daripada gliserin dan melarutkan berbagai bahan, seperti kortikosteroid, fenol, obat sulfat, barbiturat, vitamin (A dan D), sebagian besar alkaloid, dan banyak anestesi lokal. Propilen glikol inkompatibel dengan reagen pengoksidasi seperti kalium permanganat. Dalam sediaan topikal, propilen glikol diketahui memiliki iritasi yang sangat minimal dibandingkan dengan turunan glikol lainnya, juga diketahui bahwa propilen glikol diserap secara topikal ketika dioleskan pada kulit yang rusak/terganggu. Propilen glikol

memiliki titik didih pada suhu 188°C dengan rentang pH yang berada pada kategori normal (Rowe, 2012).

3. **Virgin Coconut Oil (VCO)**

Virgin Coconut Oil atau VCO merupakan minyak yang dihasilkan dari buah kelapa segar. VCO mengandung banyak asam lemak rantai menengah (*Medium Chain Fatty Acid*). Kandungan asam lemak rantai menengah yang paling banyak terkandung dalam VCO adalah asam laurat. VCO dapat bermanfaat dalam pengobatan berbagai jenis penyakit berbahaya, karena di dalam coconut oil terdapat kandungan senyawa penting yaitu *Medium Chain Triglycerides* (MCT) yang berperan sebagai zat aktif penyerang penyakit. MCT sangat stabil pada suhu yang sangat rendah dan tinggi. MCT tidak mengalami polimerisasi atau penghitaman (perubahan warna) akibat penambahan panas. Sebaliknya, sebagian besar minyak nabati apabila dipanaskan pada suhu tinggi, akan menjadi kental. Sedangkan MCT masih berwujud cairan jernih dan tidak mengental meskipun pada suhu yang sangat rendah, yaitu 0°C. VCO juga mengandung *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) dimana MCFA ini dapat merangsang pembentukan kolesterol baik di dalam tubuh, sehingga VCO dapat bermanfaat mengurangi penumpukan kolesterol di dalam darah yang dapat menyebabkan obesitas dan penyakit jantung (Timoti, 2005).

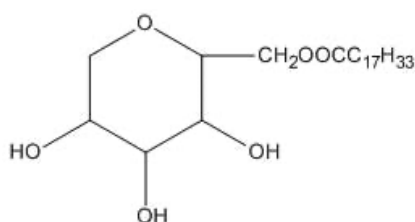
4. **Gliserin**



Gambar 10. Struktur Kimia Gliserin

Gliserin digunakan dalam berbagai formulasi farmasi termasuk sediaan oral, oftalmik, topikal, dan parenteral. Dalam formulasi farmasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan terutama untuk sifat humektan dan emoliennya dengan konsentrasi <30%. Gliserin juga digunakan dalam gel dan juga sebagai aditif dalam aplikasi tambalan. Gliserin bersifat higroskopis, tidak rentan terhadap oksidasi dalam kondisi penyimpanan ruang, tetapi terurai pada pemanasan. Campuran gliserin dengan air, etanol (95%), dan propilen glikol stabil secara kimiawi. Perubahan warna gliserin menjadi hitam terjadi dengan adanya cahaya, atau pada kontak dengan seng oksida atau bismut nitrat basa.

5. SPAN



Gambar 11. Struktur Kimia SPAN

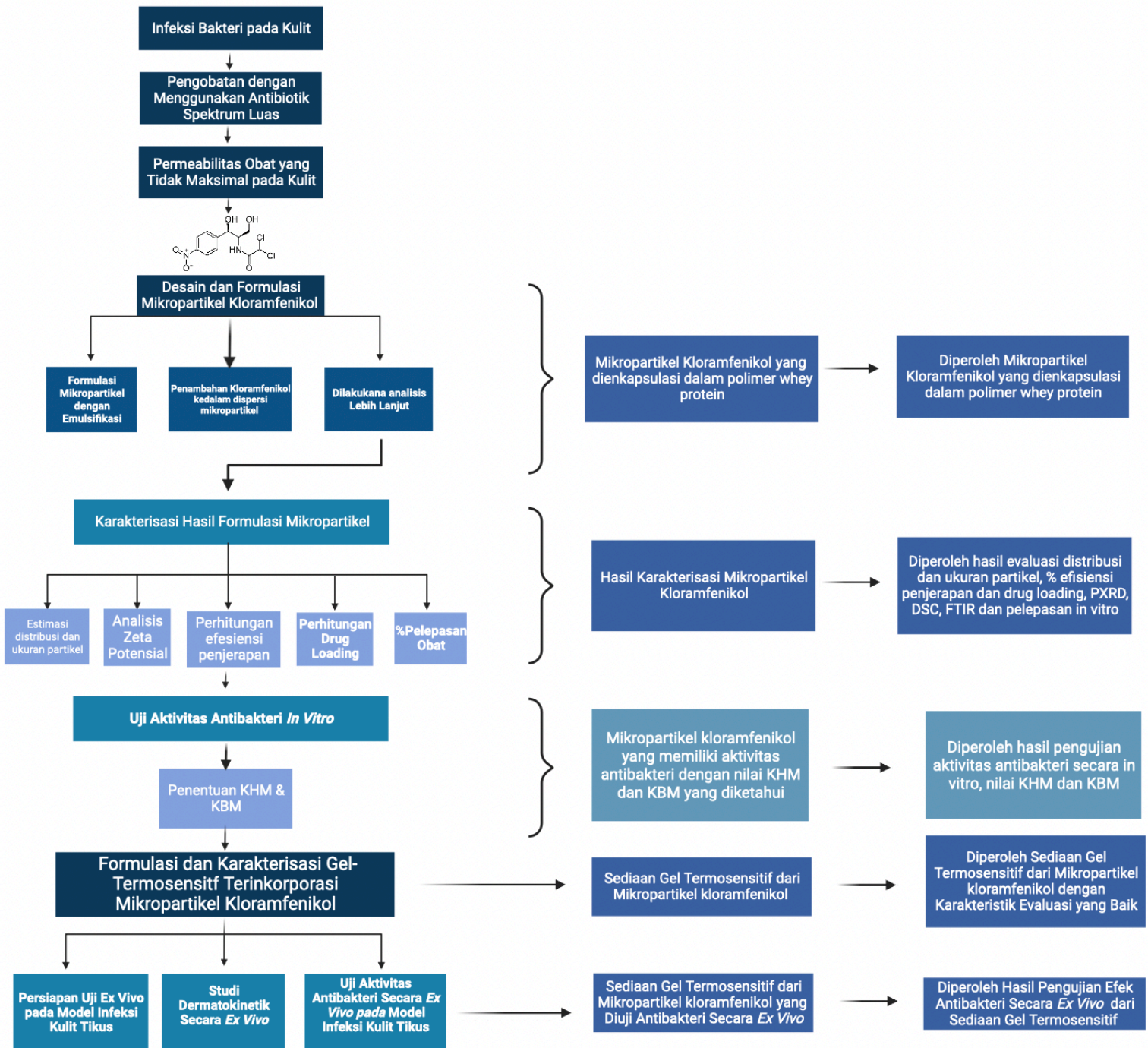
Span 20 atau sorbitan monolaurat adalah cairan kental berwarna kuning. Ester sorbitan secara luas digunakan dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi sebagai surfaktan non-ionik lipofilik. Ester sorbitan secara umum dalam formulasi berfungsi sebagai agen pengemulsi dalam pembuatan krim, emulsi, dan salep untuk penggunaan topikal. Ketika digunakan sebagai agen pengemulsi tunggal, ester sorbitan menghasilkan emulsi air dalam minyak yang stabil dan mikroemulsi, namun ester sorbitan lebih sering digunakan dalam kombinasi bersama bermacam-macam proporsi polysorbate untuk menghasilkan emulsi atau krim, baik tipe M/A atau A/M. Kadar yang digunakan apabila dikombinasikan dengan

pengemulsi hidrofilik lain adalah 1-10% (Rowe et al., 2009). Span 20, span 40, span 60 dan span 80 adalah lemak jenuh yang kejenuhannya berbeda dari yang lain dilihat dari rantai panjang hidrokarbon (Karhonen M., et al, 2004).

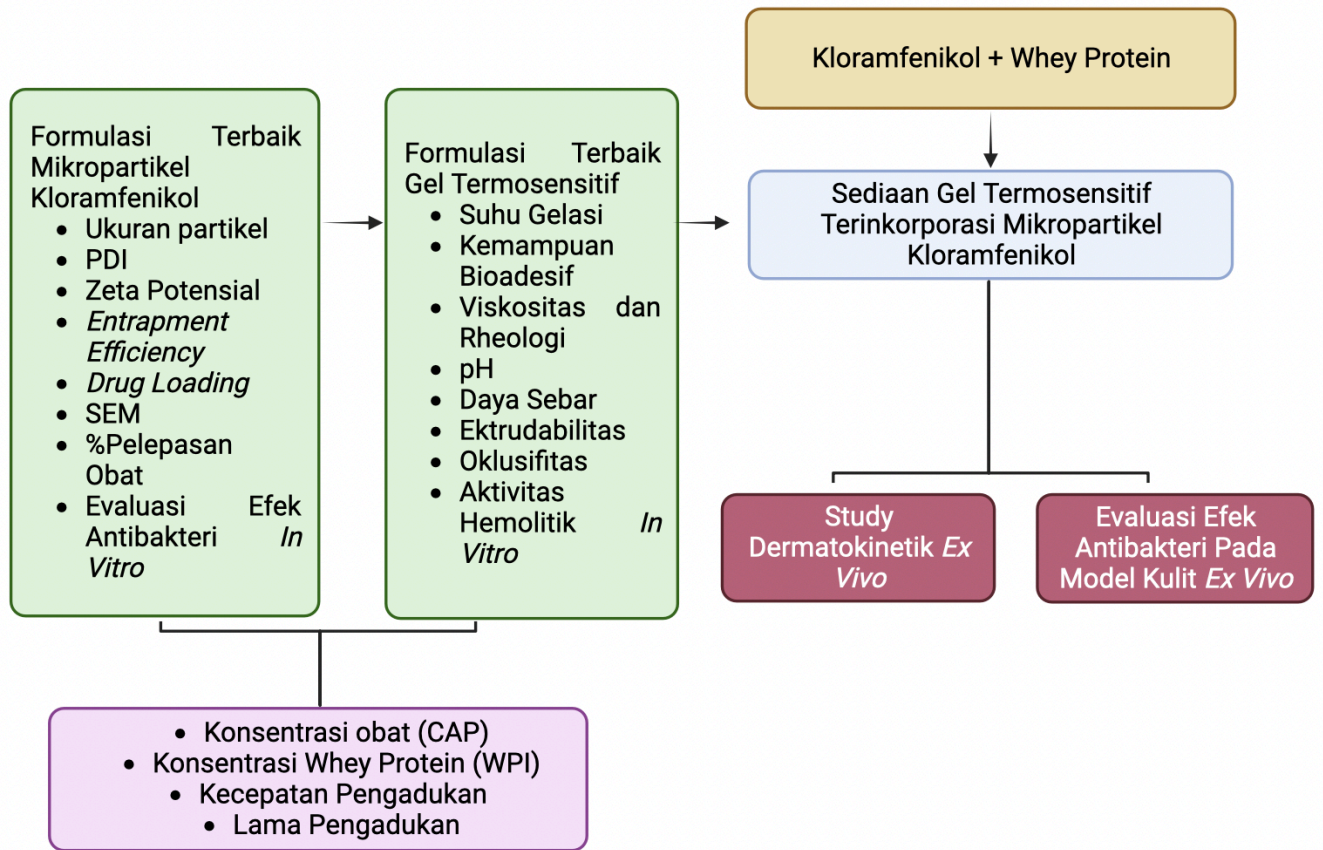
6. DMDM Hidantoin

Dimetilol Dimetil Hidantoin (DMDM Hidantoin) merupakan pengawet yang dapat digunakan dalam produk kosmetik dengan konsentrasi hingga 1%. DMDM hidantoin berwujud kristal putih yang kurang berbau dan memiliki bobot molekul 188,19 gram/mol (Liebert, 1998). DMDM hidantoin memiliki kemampuan sebagai agen antimikroba yang bersifat spektrum luas sehingga efektif dalam melawan kapang, khamir, bakteri Gram positif dan Gram negatif (Liebert, 1998).

J. KERANGKA TEORI



K. KERANGKA KONSEP



Keterangan :

- Variabel Kontrol
- Variabel Independen
- Variabel Antara
- Variabel Dependen
- Variabel Perancu